FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

N° 911

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Jacques CAILLOT

Né le 28 Juillet 1943, à Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

Présentée et soutenue publiquement le 197

A PROPOS DES DIFFERENCES DE GLYCOLYSE LEUCOCYTAIRE ENTRE LES MALADES DIABETIQUES ET LES NON DIABETIQUES

Président : M. G. DREYFUS, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523711_0047

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Jacques CAILLOT

Né le 28 Juillet 1943, à Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

Présentée et soutenue publiquement le 197

A PROPOS DES DIFFERENCES DE GLYCOLYSE LEUCOCYTAIRE ENTRE LES MALADES DIABETIQUES ET LES NON DIABETIQUES

Président : M. G. DREYFUS, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MES PARENTS

A Monsieur le Professeur GILBERT-DREYFUS

Professeur de la Chaire de Clinique Médicale
à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière
Médecin des Hôpitaux
Commandeur de la Légion d'Honneur

Qui a accepté très simplement de parrainer cette thèse.

Avec mes très vifs remerciements.

A Monsieur le Docteur G. MARCEL

Avec ma profonde reconnaissance pour tout ce qu'il m'a appris dans tous les domaines et pour l'exemple d'Homme qu'il a su me donner.

A Monsieur LEMAUR

Pour sa simplicité, sa gentillesse et sa compétence qu'il m'a constamment prodiguées pendant ce travail.

INTRODUCTION

Il est maintenant entré dans les habitudes des médecins généralistes de demander des examens complémentaires de laboratoire.

Parmi ceux-ci, la glycémie est très fréquemment demandée, étant données d'une part, l'importance du diagnostic de diabète et, d'autre part, la facilité, tout du moins apparente, de cet examen de laboratoire.

Bien que devenue un examen de routine, la détermination de la glycémie est encore entachée de nombreuses erreurs dues à l'inobservation de précautions aussi précises que nécessaires.

Une des erreurs les plus importantes est due au phénomène de glycolyse.

Nous avons essayé de déterminer aussi simplement que possible l'importance de cette glycolyse.

Cette investigation nous a montré, ce que nous avons retrouvé par la suite dans notre bibliographie, qu'il existe une différence dans la glycolyse, selon qu'il s'agit de diabétiques ou de non-diabétiques.

CAUSE DE LA GLYCOLYSE

Le phénomène de glycolyse peut être dû à plusieurs facteurs.

1) Consommation de glucose par les cellules sanguines

Les éléments figurés du sang se comportent, du point de vue énergétique, comme les cellules des autres tissus, à savoir qu'ils puisent leur énergie calorique à partir de la dégradation du glucose.

Un exemple concret, facilement observable, en est donné par les fausses hypoglycémies rencontrées chez les leucémiques.

Ce phénomène est simplement dû au fait que la quantité standard de fluorure utilisée habituellement pour neutraliser la glycolyse, lors des dosages de glycémie, se révèle ici insuffisante en regard du nombre de leucocytes présents dans le sang.

Cette fausse hypoglycémie peut être prévenue par augmentation de la quantité de fluorure de sodium dans le tube à prélèvement (cf. M. Piette).

2) Enzymes glycolytiques présents dans le plasma

Leur étude est aussi vaste qu'ardue et nous ne concrétiserons leur existence que par l'observation d'un fait couramment rencontré en laboratoire.

Les sérums-étalons du commerce, qui sont livrés lyophilisés, perdent pratiquement tout leur glucose quarante-huit heures après leur réhydratation sans qu'il y ait eu la présence d'une seule cellule après cette réhydratation.

3) Phénomène chimique pur de glycolyse

L'exemple pratique en est donné par l'obligation qu'il y a de conserver au froid et dans l'acide benzoïque à saturation les solutions glucosées-témoins du commerce (glucose à 1 % + eau distillée stérile), utilisées pour étalonner les appareils sous peine d'être rapidement inutilisables par disparition rapide de leur glucose.

L'une de ces causes, l'action directe des éléments figurés du sang, est parmi les plus importantes et c'est sur elle que nous aimerions insister.

GLYCOLYSE
DUE AUX ELEMENTS FIGURES DU SANG
CHEZ LE SUJET NON DIABETIQUE

(Nous éliminons une éventuelle glycolyse due à la présence de souillures bactériennes.)

1) Globules rouges

Cette glycolyse érythrocytaire semble faible, d'après les travaux américains et allemands, de l'ordre de 200 à 1.000 fois plus faible que la glycolyse leucocytaire (Donhoffer et Mittag, Mc Lean et H. Weir).

2) Plaquettes

Nous n'avons pas trouvé, dans la littérature, de travaux donnant la consommation de glucose par les thrombocytes, mais il est certain qu'une étude à ce sujet serait riche d'enseignements.

3) Leucocytes

Ces derniers présentent une grande activité glycolytique aérobie.

L'utilisation de carbone marqué a montré que cette glycolyse empruntait essentiellement la voie d'Embden-Meyerhof (85 % du glucose sont ainsi catabolisés), alors que 3 % seulement du glucose sont catabolisés par la voie des pentoses (Beck et Valentine, Stjernholm).

Des essais de mesure de cette consommation de glucose par les leucocytes ont été faits par des auteurs allemands et américains.

Les résultats s'en sont montrés très variables d'un auteur à l'autre, ceci venant des méthodes différentes de culture, centrifugation, température, délais de prélèvement, employés par les auteurs.

Nous les citons ici pour donner un ordre de grandeur et mettre en relief la difficulté technique de telles études.

Consommation de glucose par les leucocytes normaux
(exprimée en 10^{-6} mol./10^{10} leucocytes/h)

Mc Lean et Weir (1915)	3.500
Bird (1951)	233
Beck et Valentine (1952)	1.400
Martin et coll. (1953)	200
Dumm (1959)	350
Löhr et Waller (1959)	734
Gastaldi et Maggi (1960)	6.200
Esman (1962)	880
Kalant et Schucher (1962)	448

4) Leucocytes de diabétiques

Chez ces derniers, les résultats obtenus ne sont pas comparables à ceux obtenus avec des leucocytes de sujets non diabétiques.

Les auteurs s'étant attachés à comparer la consommation de glucose entre ces deux formes de leucocytes, ont trouvé que les leucocytes de diabétiques consommaient moins de glucose que les leucocytes de sujets normaux.

Consommation de glucose par les leucocytes
(exprimée en 10^{-6} mol./10^{10} leucocytes/h)

	Non diabétiques	*Diabétiques*
Martin et coll.	200	120
Dumm	350	220
Esman	880	720
Kalant et Schucher	448	290

Les recherches sur la glycolyse étant actuellement en plein essor, il nous a paru intéressant de regarder nous-mêmes dans le service si l'on pouvait mettre en évidence des différences de consommation de glucose entre les leucocytes de sujets normaux et de sujets diabétiques :

— d'une part, par intérêt théorique, le diabète et sa pathogénie sont loin d'être clairement connus, et toute notion, même modeste, ne peut qu'aider à la compréhension de cette entité morbide ;

— d'autre part, sur un plan pratique, il pouvait être utile de préciser à nouveau les conditions techniques pratiques de détermination de la glycémie et de connaître les variations qui peuvent exister pour interpréter le mieux possible les chiffres d'un examen si souvent demandé.

TRAVAUX PERSONNELS

Dans le petit service de médecine de l'hôpital de Sèvres, nous avons déterminé la glycémie de 45 malades non diabétiques à titre de référence et de 12 malades diabétiques.

Un nombre aussi peu important de malades n'a évidemment pas l'ambition de déduire des lois scientifiques universelles, mais suffit à montrer le soin qu'il faut apporter à tout examen de laboratoire, aussi bien dans sa réalisation que dans son interprétation.

Chaque prélèvement a été fait non à jeun, à 10 heures du matin, sur deux tubes, l'un contenant de l'héparine (anticoagulant n'inhibant pas la glycolyse) et l'autre contenant un mélange fluorure-oxalate, mélange anticoagulant destiné à inhiber la glycolyse.

1) Préparation de l'échantillon

Deux flacons stériles possédant un repère gradué à 10 cm^3 et une étiquette portant le nom du malade, l'heure du prélèvement et la mention « AGITER » :

— l'un des deux flacons contient à l'avance 1 goutte de « Labhéparine » ;

— l'autre contient une portion du mélange antiglycolytique suivant :

— Oxalate neutre de potassium pur pulvérisé .. 6 g
— Fluorure de sodium pur ..... 4 g

2) Prise de sang

Après pose d'un garrot très peu serré et désinfection du pli du coude, ponction veineuse franche avec aiguille et tubulure stériles versant directement dans le tube.

3) Dosage de la glycémie

Les deux tubes ont été portés immédiatement au laboratoire après la prise de sang et les dosages ont été réalisés selon le principe d'Hagedorn et Jensen (réduction du ferricyanure en ferrocyanure en milieu alcalin) par un autoanalyseur, sur plasma centrifugé au moment du dosage (en effet, le sang total bouche les tubulures de l'autoanalyseur. Mais l'action des cellules à pu jouer néanmoins, puisqu'elles sont restées en contact avec le plasma jusqu'au moment du dosage).

Résultats obtenus

Les déterminations de la glycémie ont été faites simultanément sur les deux tubes :

— immédiatement après le prélèvement ;
— six heures après le prélèvement ;
— vingt-quatre heures après le prélèvement.

1) Sujets non diabétiques

Sur les 45 sujets non diabétiques, les taux de glycémie du sang prélevé sur fluorure-oxalate n'ont pas varié au cours des vingt-quatre heures, ce qui a été une vérification de l'action antiglycolytique de ce mélange.

Dans les tubes contenant de l'héparine, où l'action glycolytique des éléments figurés du sang a donc pu se produire, nous avons obtenu les résultats suivants :

— Dans tous les cas, la glycémie est abaissée dès la sixième heure après le prélèvement et bien plus vingt-quatre heures après, ce qui démontre bien l'existence d'une glycolyse.

— *Six heures* après la prise de sang, la glycémie a baissé en moyenne de 20 % par rapport au taux initial pour un nombre de globules blancs variant, selon les sujets, de 5.800 à 8.200/mm^3 et les tubes ayant été conservés à la température du laboratoire.

— *Vingt-quatre heures* après, pour les mêmes malades et toujours sur le sang prélevé sur héparine, le taux de glycémie avait en moyenne baissé de 56 % par rapport au taux initial.

Pour 20 malades, nous avons mis les tubes au réfrigérateur à 0°C et ne les en avons sortis que pour effectuer les dosages.

— A la sixième heure, la baisse de la glycémie était seulement de 15 % par rapport à la glycémie initiale.

— A la vingt-quatrième heure, la baisse était de 40 %.

Ce qui tendrait à montrer que le froid avait une action freinatrice du catabolisme du glucose chez les leucocytes, mais non inhibitrice.

Remarques sur un cas particulier

Ayant, dans le service, une malade leucopénique, il était intéressant de regarder comment se comportait sa glycolyse leucocytaire :

— Le premier jour de son hospitalisation, elle avait 1.200 G.B./mm³.

— La glycémie au moment du prélèvement était de 1,48 g/l.

— La glycémie six heures après était de 1,30, soit 12 % de glucose consommé.

— La glycémie quarante-huit heures après était de 1,06, soit 28 % de glucose consommé.

Une deuxième recherche effectuée quinze jours après pour vérification a montré des résultats similaires. Elle n'avait encore que 1.400 G.B./mm³ :

— Glycémie de départ : 0,80 g/l.

— Glycémie six heures après prélèvement : 0,68 g/l, soit 15 % de glycolyse leucocytaire.

— Glycémie vingt-quatre heures après prélèvement : 0,65 g/l, soit 18 % de glycolyse leucocytaire.

Ceci montre bien l'importance du nombre de globules blancs dans la glycolyse des éléments figurés du sang.

2) Sujets diabétiques

Le service de l'hôpital n'étant pas spécialisé, le nombre de diabétiques que nous avons pu étudier est donc très restreint.

Néanmoins, les 12 malades cités concordent tous quant aux résultats.

Les prélèvements et les dosages ont été réalisés dans les mêmes conditions techniques que pour les sujets non diabétiques.

Les prélèvements ont été effectués dès les premiers jours de leur arrivée dans le service, donc sur des malades non équilibrés au point de vue glycémique.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Glycémie à 10 h (*en g/l*)	Glycémie 6 h après (*en g/l*)	Glycémie 24 h après (*en g/l*)	Nombre de globules blancs par mm³
Mme N...	2,92	2,76 (5,4 %)	1,90 (35 %)	6.400
M. P...	2,52	2,28 (9,5 %)	1,72 (31,5 %)	7.000
M. H...	3,92	3,52 (10 %)	3,24 (17 %)	6.800
M. Lo...	3,00	2,72 (9 %)	2,40 (20 %)	5.400
M. Li...	2,04	1,80 (11 %)	1,56 (23 %)	6.800
Mme No...	3,12	2,68 (14 %)	2,16 (30 %)	6.700
M. F...	3,16	2,76 (12 %)	2,04 (35 %)	6.200
Mme B...	1,26	1,19 (5 %)	0,96 (23 %)	5.200
M. D...	1,98	1,90 (4 %)	1,20 (39 %)	7.500
M. W...	2,55	2,41 (6 %)	1,62 (36 %)	7.000
Mme N...	3,10	2,90 (6,4 %)	1,90 (38 %)	7.200
M. Fa...	2,34	2,05 (12 %)	1,65 (29 %)	5.400

Les chiffres entre parenthèses expriment le pourcentage de glucose consommé par rapport à la glycémie initiale

Si l'on fait une moyenne des résultats obtenus pour ces 12 malades, nous constatons que :

— chez les diabétiques non équilibrés, la glycolyse des leucocytes est, six heures après le taux de glycémie initial, d'environ 8,7 % de ce taux et, vingt-quatre heures après, d'environ 30 %.

Si on les compare aux résultats trouvés dans les mêmes conditions chez des malades non diabétiques :

— 20 % six heures après la prise de sang ;

56 % vingt-quatre heures après la prise de sang ;

on constate alors qu'il existe une très nette diminution de glycolyse dans les leucocytes des sujets diabétiques.

DISCUSSION

Discussion des résultats

Le prélèvement systématique sur deux tubes, l'un contenant l'héparine, simple anticoagulant, et l'autre contenant le mélange fluorure-oxalate, a conduit à vérifier deux points :

1° Les dosages effectués sur ces deux tubes, dans les mêmes conditions, ont permis de réduire le risque d'erreur de détermination du taux de la glycémie initiale et de s'assurer de la bonne qualité de la technique des dosages.

2° Les dosages effectués sur les tubes contenant le fluorure-oxalate ont aussi permis, dans tous les cas, de montrer la parfaite action antiglycolytique de ce mélange puisque, dans les sangs prélevés sur nos 57 malades, nous n'avons jamais observé de différence entre la glycémie initiale et celles de la sixième et de la vingt-quatrième heure.

Les causes d'erreurs dans notre étude résident surtout dans le fait que ces dosages ont été faits sur un nombre beaucoup trop restreint de malades pour que l'on puisse tirer des lois générales valables sans restriction sur le plan scientifique.

Nous avons pourtant essayé de réduire au maximum les erreurs dues à une mauvaise technique en ne faisant intervenir que le minimum de manipulateurs et toujours les mêmes.

(Une seule personne pour prélever le sang, toujours à la même heure, les mêmes tubes, avec les mêmes mélanges, portés toujours immédiatement au laboratoire, dosés par la même laborantine, dans le même autoanalyseur à heures régulières et après étalonnage systématique de l'appareil.)

Interprétation des résultats

Il nous a été très agréable de constater que nos travaux modestes par leur nombre et par le matériel à notre disposition, ont donné des résultats concordant avec des travaux faits à plus grande échelle par des auteurs possédant un matériel et un personnel plus importants.

Le cas particulier de la malade leucopénique montre bien, par le cas extrême, donc plus probant qu'il représentait, l'importance du nombre de globules blancs dans le sang pour l'appréciation du taux de glycémie.

Il est donc bon de connaître le nombre de globules blancs d'un malade avant d'interpréter une glycémie (M. Piette avait déjà noté les fausses hypoglycémies chez les leucémiques).

Le point de vue pratique que l'on peut tirer de ces travaux est l'importance que l'on doit accorder aux précautions à apporter pour les déterminations de glycémie.

— Il faut systématiquement prélever le sang sur le mélange fluorure-oxalate qui est le meilleur antiglycolytique connu à l'heure actuelle et l'on conçoit l'importance de cette précaution lorsque l'on considère l'avidité des globules blancs pour le glucose, avidité mise en évidence par nos dosages.

— Les tubes dont le sang ne serait pas prélevé sur ce mélange doivent alors être immédiatement portés au laboratoire et y être immédiatement dosés, sous peine de donner des résultats erronés et, en particulier, faussement rassurants en donnant une glycémie normale chez un diabétique que l'on croit bien équilibré, alors qu'en fait, son taux de glycémie a baissé par action glycolytique des globules blancs présents dans le sang.

Ces notions apparemment élémentaires pour les services hospitaliers, deviennent très importantes pour le généraliste et surtout en milieu rural où, faute de personnel et de laboratoires proches, il est courant que le praticien fasse lui-même ses prélèvements (souvent simplement sur héparine), les porte en fin de tournée chez le pharmacien qui lui-même ne les donnera au laboratoire de la ville que quelques jours après.

On conçoit aisément que les résultats de glycémies déterminées dans ces conditions puissent prêter à discussion.

Quant à l'interprétation des résultats que nous avons trouvés chez les diabétiques, à savoir que chez ceux-ci la glycolyse leucocytaire est nettement moindre que chez les sujets non diabétiques, il n'est pas dans notre ambition ni dans nos moyens d'en donner une explication personnelle.

Nous ne ferons, par conséquent, que citer celle donnée par les auteurs qui se sont penchés sur la question et qui avaient fait les mêmes constatations.

Esman, en particulier, pense que l'explication de cette constatation serait donnée par un trouble du métabolisme intermédiaire entre l'acide lactique et l'acide pyruvique dans les leucocytes diabétiques.

(L'adjonction d'acide lactique à des cultures de globules blancs normaux et à des globules blancs de diabétiques a montré :

— chez les globules blancs non diabétiques : une baisse du catabolisme du glucose, de la formation de lactate et de pyruvate, et une augmentation de la synthèse glycogénique ;

— chez les globules blancs diabétiques : augmentation du catabolisme du glucose, alors que la baisse de formation de lactate et de pyruvate n'était que peu sensible.

L'adjonction d'acide pyruvique réalisée sur des cultures de leucocytes par Mac Kinney, engendre chez ceux-ci une baisse de 10 % de leur consommation de glucose.)

CONCLUSIONS

Nous avons voulu, par ces travaux, attirer l'attention sur le soin à apporter aux prélèvements sanguins et aux dosages en général.

On a souvent tendance à prendre pour exact, *a priori,* un résultat de laboratoire exprimé sous la forme sèche et sans appel d'un simple chiffre.

Il faut toujours avoir présent à l'esprit que ce chiffre mathématique sous-entend des opérations manuelles et un appareillage, et qu'il n'a donc de valeur intrinsèque que si l'on connaît la valeur des opérateurs et de leur matériel, et donc les conditions dans lesquelles sont effectués ces examens.

D'autre part, sur un plan plus précis, celui de la glycolyse leucocytaire nettement abaissée chez les diabétiques, il nous paraîtrait intéressant de connaître l'action de l'insuline et des hypoglycémiants de synthèse sur cette glycolyse.

Des travaux ont déjà été effectués par Martin, Weinberg, Dumm, Esman, Kalant et Schucher, et des auteurs américains qui, après avoir ajouté des quantités connues d'insuline à des leucocytes de diabétiques, ont constaté un retour de leur glycolyse à la normale.

Par contre, nous n'avons trouvé aucune référence portant sur des essais faits avec d'autres hypoglycémiants.

Il n'entre pas dans le cadre de nos modestes travaux de réaliser des recherches aussi délicates et aussi difficiles à interpréter, mais il est certain qu'une foule de travaux reste à faire dans ce domaine encore peu exploré, qui pourrait peut-être conduire à une notion plus « cellulaire », donc plus exacte, du diabète équilibré.

Enfin, il serait intéressant de comparer ces résultats de glycolyse leucocytaire avec des hyperglycémies provoquées, pratiquées chez les mêmes diabétiques, afin d'avoir de cette glycolyse leucocytaire, non plus une notion scientifique pure, mais une action pratique qui permettrait peut-être à l'avenir de faire un diagnostic de diabète plus simple à réaliser, donc plus souvent posé, donc plus précocement fixé.

Nous espérons ainsi avoir, d'une part, rendu plus réaliste la notion de glycémie, et d'autre part, attiré l'attention sur l'importance des travaux qui restent à faire sur le diabète.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
GILBERT-DREYFUS

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

Piette (M.). — Cytologie des maladies du sang (Flammarion, p. 377.)

Monroe (J.F.) and Shipp (J.C.). — Glucose metabolism in leucocytes from patients with diabetes mellitus, with and without hypercholesterolemia. (*Diabetes,* septembre 1965, vol. 14, 584-590.)

Mahr (G.). — Der Kohlenhydratstoffwechsel der Leukozyten beim Diabetes Mellitus. (*Blut,* 1963, pp. 418-430.) (Cet article contient une très volumineuse bibliographie — 130 références — qu'il ne nous a pas semblé utile de reproduire.)

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 9

Cause de la glycolyse 11
— *Consommation de glucose par les cellules sanguines* . . . 11
— *Enzymes glycolytiques présents dans le plasma* 11
— *Phénomène chimique pur de glycolyse* 12

Glycolyse due aux éléments figurés du sang chez le sujet non diabétique 13
— *Globules rouges* 13
— *Plaquettes* 13
— *Leucocytes* 14
— *Leucocytes de diabétiques* 15

Travaux personnels 17
— *Préparation de l'échantillon* 17
— *Prise de sang* 18
— *Dosage de la glycémie* 18
Résultats obtenus 18
— *Sujets non diabétiques* 19
— *Sujets diabétiques* 20

Discussion 23
Discussion des résultats 23
Interprétation des résultats 24

Conclusions 27

Bibliographie 29

IMPRIMERIE R. FOULON & CIE, 29, RUE DEPARCIEUX, PARIS-XIV^{e}